

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg

(Direktor: Prof. Dr. med. F. HARTMANN)

Enzymmuster und Isozyme menschlicher Tumoren

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät

der Philipps-Universität zu Marburg a. d. Lahn

vorgelegt von

Uwe Bär

aus Göttingen

Marburg 1963



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 14. Juni 1963

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. SCHMID
Referent: Prof. Dr. HARTMANN
Correferent: Dr. med. habil. KLINGENBERG

Obwohl WARBURG³³ seine Entdeckung, daß Zellstoffwechsel-Enzyme im Serum auftreten, an tumortragenden Tieren machte, ist gerade für die Tumordiagnostik der Wert der Enzym-Bestimmungen im Serum noch außerordentlich gering^{22, 23}.

Es war daher die Frage prüfenswert, ob hier nicht die Kenntnis von Enzym-Mustern menschlicher Tumoren oder besondere Eigenschaften ihrer Enzyme einen Fortschritt bringen könnten. Ermutigend hierfür waren besonders die Befunde von GREENSTEIN¹⁷, der, verglichen mit der Heterogenität der Enzym-Muster normaler Gewebe, bei den Tumoren weitgehend uniforme Muster fand.

Im folgenden werden die Ergebnisse der Untersuchungen von 19 Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in verschiedenen menschlichen Tumoren und ihren Muttergeweben mitgeteilt und besprochen.

Methodik und Material

Die Enzym-Bestimmungen erfolgten in frischem Operationsmaterial unmittelbar nach Resektion des betreffenden Organteils*. Die im soliden Tumorgewebe entnommenen Gewebstücke wurden makroskopisch von Blut befreit, offensichtlich nekrotische Partien wurden verworfen. In möglichst weiter Entfernung vom Tumor, aber in funktionell korrespondierenden Bereichen, erfolgte eine weitere Probenentnahme. Aufschluß des Gewebes durch 2 min-Homogenisation im Ultra-Turrax-Homogenisator (Fa. Janke & Kunkel, Staufen i. Br.) unter Kochsalz-Eiskühlung in 0,15 M NaCl 0,01 ml/mg Gewebsfeuchtgewicht.

20 min-Zentrifugation bei 18000 g und +2°C. Verwendung des Überstandes. Die Enzymaktivitäten wurden im optischen Test nach folgenden Ansätzen bestimmt**:

* Für die Überlassung des Operationsmaterials danken wir unseren Kollegen der Chirurg. Universitäts-Klinik Marburg, der Chirurg. Klinik sowie der gynäkologischen Abteilung des Stadtkrankenhauses Kassel.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

** Es wurden die Abkürzungen verwandt: ADH = Alkohol-Dehydrogenase; ADP = Adenosin-Diphosphat; Ala = Alanin; ALD = Aldolase; Aspa = Aspartat; ATP = Adenosin-Triphosphat; BTS = Brenztraubensäure; DPNH (H) = Diphospho-Pyridin-Nucleotid (reduziert); EDTA = Äthylendiamin-tetraacetat; ENO = Enolase; FDP = Fructose-1, 6-Diphosphat; GAPDH = Glycerinaldehyd-Phosphat-Dehydrogenase; GDH = α -Glycerophosphat-Dehydrogenase; GLDH = Glutamat-Dehydrogenase; GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase; GSH = reduziertes Glutathion; HK = Hexokinase; ICA = Isocitrat; ICDH = Isocitrat-Dehydrogenase; KGS = α -Ketoglutarat; LDH = Lactat-Dehydrogenase; MDH = Malat-Dehydrogenase; OAA = Oxalacetat; PEP = Phospho-Enolpyruvat; PFA = Fructose-1-Phosphat-Aldolase; PGDH =

LDH: 0,26 mM DPNH; 1,5 mM Pyruvat pH 6,8; 50 mM Trap, pH 7,5;

MDH: 0,20 mM DPNH; 0,4 mM OAA, 50 mM Trap, pH 7,5;

GOT: 0,30 mM DPNH; 7,0 mM KGS, pH 6,8; 50 mM 1-Aspartat, pH 7,5; etwa 5 U/ml MDH; 100 mM Phosphat-Puffer, pH 7,5;

GPT: 0,26 mM DPNH; 9,0 mM KGS, pH 6,8; 80 mM 1-Ala (als Racemat), pH 7,5, etwa 5 U/ml LDH; 100 mM Phosphat-Puffer, pH 7,5;

GLDH: 0,16 mM DPNH; 8,0 mM KGS, pH 6,8; 100 mM Ammonacetat; 2,6 mM EDTA; 50 mM Trap, pH 7,5;

SODH: 0,26 mM DPNH, 250 mM Fructose; 50 mM Trap, pH 7,5;

HK: 0,50 mM DPNH; 50 mM Glucose; 7,5 mM ATP, pH 7,5; 2,5 mM MgSO₄; 2,5 mM PEP, pH 6,8; 50 mM KCl; etwa 3 U/ml PK; etwa 5 U/ml LDH; 50 mM Trap, pH 7,5;

ALD: 0,20 mM DPNH; 1,2 mM FDP, pH 6,8; etwa 3 U/ml TIM; etwa 3 U/ml GDH; 50 mM Trap, pH 7,5;

PFA: 0,20 mM DPNH; 150 mM Fructose-1-Phosphat, pH 6,8; etwa 3 U/ml TIM; etwa 3 U/ml GDH; 50 mM Trap, pH 7,5;

GDH: 0,20 mM DPNH; 1,2 mM FDP, pH 6,8; etwa 3 U/ml ALD; etwa 3 U/ml TIM; 50 mM Trap, pH 7,5;

ADH: 0,16 mM DPNH; 1,2 mM Acetaldehyd; 50 mM Trap, pH 7,5;

GAPDH: 0,20 mM DPNH; 2,5 mM 3-PGS, pH 6,8; 8,0 mM ATP, pH 7,5; 2,5 mM MgSO₄; 1,2 mM GSH; 1,3 mM EDTA; etwa 5 U/ml PGK; 50 mM Trap, pH 7,5;

PGK: 0,25 mM DPNH; 2,0 mM 3-PGS, pH 6,8; 3,2 mM ATP, pH 7,5; 7,5 mM MgSO₄; 2,4 mM GSH; 3,9 mM EDTA; etwa 5 U/ml GAPDH; 50 mM Trap, pH 7,5;

PGM: 0,25 mM DPNH; 1,5 mM 3-PGS; pH 6,8; 0,40 mM 2,3-Di-PGS; 3,9 mM EDTA; 50 mM KCl; 7,5 mM MgSO₄; 0,60 mM ADP; etwa 3 U/ml ENO; etwa 3 U/ml PK; etwa 5 U/ml LDH; 50 mM Trap, pH 7,5;

ENO: 0,25 mM DPNH; 1,2 mM PEP, pH 6,8; 0,45 mM ADP; 60 mM MgSO₄; 100 mM KCl; 1,3 mM EDTA; etwa 3 U/ml PK; etwa 5 U/ml LDH; 50 mM Trap, pH 7,5;

PK: 0,26 mM DPNH; 1,2 mM PEP, pH 6,8; 0,45 mM ADP; 60 mM MgSO₄; 100 mM KCl; 1,3 mM EDTA; etwa 5 U/ml LDH; 50 mM Trap, pH 7,5;

ICDH: 0,30 mM TPN; 1,9 mM ICA, pH 7,5; 10 mM MnCl₂; 1,3 mM EDTA; 50 mM Trap, pH 7,5;

ZF: 0,30 mM TPN; 0,80 mM G-6-P, pH 6,8; 1,3 mM EDTA; 50 mM Trap, pH 7,5;

PGDH: 0,30 mM TPN; 1,5 mM 6-Phosphogluconat, pH 6,8; 10 mM MgCl₂; 1,3 mM EDTA; 50 mM Trap, pH 7,5***.

Angabe der Enzym-Aktivitäten in mU pro mg lösliches Protein. [1 U = Umsatz von 1 μ M Substrat/min (25°C).] Alle Gewebe wurden mit gleichen Test-Ansätzen gemessen. Vergleichende Untersuchungen der optimalen Substrat-Konzentrationen in Tumoren und ihren Muttergeweben zeigten für LDH, GLDH und ICDH keine größeren Unterschiede in den Homogenat-Überständen.

6-Phosphogluconat-Dehydrogenase; PGK = 3-Phosphoglycerat-Kinase; PGM = 3-Phosphoglycerat-Mutase; 2-PGS = 2-Phosphoglycerat; 3-PGS = 3-Phosphoglycerat; PK = Pyruvat-Kinase; SODH = Sorbit-Dehydrogenase; TIM = Triosephosphat-Isomerase; TPN (H) = Triphospho-Pyridin-Nucleotid (reduziert); ZF = Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Zwischenferment).

*** Bezug der Hilfsenzyme und Substrate von Fa. C. F. Boehringer & Soehne, Mannheim.

Bestimmungen des löslichen Proteins nach T. E. WEICHELBAUM³⁵, mod. nach BÜCHER⁴, Blutbestimmungen nach H. HOLZER²⁰ et al.

Da der Blutgehalt der untersuchten Gewebeproben im Durchschnitt nur 2,7% (Gewichtsanteile) betrug und keine deutlichen Unterschiede zwischen den Tumoren und den Normal-Geweben beobachtet wurden, haben wir diesen möglichen Störfaktor^{20, 31} in den Ergebnissen vernachlässigt.

Zur Trennung der Isozyme wurde der Überstand des Turrax-Homogenates 8 Std gegen 0,008 M Na-Phosphat-Puffer, pH 7,0 bei + 5° C dialysiert. Verteilungs-Chromatographie an DEAE-Cellulose nach PETERSON und SOBER²⁴. Durchmesser der Säulen 0,7 cm; Länge 45 cm; 3–4 g DEAE-Cellulose, eingestellt zur pH-Konstanz mit 0,008 M Phosphat-Puffer, pH 7,0. Diskontinuierliche Elution mit Phosphat-Puffer/NaCl-Gradienten nach HESS und WALTER^{19*}. (Nachdem eigene Untersuchungen zeigten, daß mit kontinuierlicher Elution prinzipiell die gleichen Ergebnisse erzielt wurden, haben wir wegen der schärferen Trennung der Banden die diskontinuierliche Methode gewählt.)

Zur Elution wurden folgende Lösungen verwandt:

1. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,008 M, pH 7,0)	45 ml
2. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,01 M, pH 6,0)	45 ml
3. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,02 M, pH 6,0)	45 ml
4. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,05 M, pH 6,0)	70 ml
5. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,05 M, pH 6,0)	
	NaCl (0,02 M)	70 ml
6. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,05 M, pH 6,0)	
	NaCl (0,05 M)	100 ml
7. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,05 M, pH 6,0)	
	NaCl (0,1 M)	150 ml
8. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,1 M, pH 6,0)	
	NaCl (0,1 M)	100 ml
9. Natrium-Phosphat-Puffer	(0,2 M, pH 6,0)	
	NaCl (0,2 M)	100 ml

Die chromatographische Trennung der Isozyme von Tumoren und Muttergeweben wurde als Parallel-Ansatz durchgeführt. Die Aktivitäten der einzelnen Isozym-Fraktionen wurden mit gleichen Test-Ansätzen bestimmt, unter dem Aspekt der vergleichenden Betrachtung kann der hierdurch gegebene Fehler vernachlässigt werden.

Die histologischen Diagnosen verdanken wir dem Pathologischen Institut der Universität Marburg (Leitender Arzt: Prof. Dr. F. GEDIGK) und dem Pathologischen Institut des Stadtkrankenhauses Kassel (Leitender Arzt: Prof. Dr. W. WEPLER).

Ergebnisse

I. Vergleich der Enzym-Muster

Die Ergebnisse der Enzym-Aktivitäts-Bestimmungen sind in Tabelle I zusammengestellt.

Um einen direkten, von den Unterschieden der absoluten Werte unabhängigen Vergleich der Enzym-Aktivitäten in den untersuchten Geweben zu ermöglichen, haben wir in Abb. 1 die Enzym-Muster der Tumoren und ihrer Muttergewebe bezogen auf GAPDH = 1 dargestellt.

Die Abb. 1a und 1b zeigen die deutlichen Unterschiede der Enzym-Muster sowohl zwischen den einzelnen Tumoren als auch zu verschiedenen Normalgeweben⁵.

Beim Vergleich der Enzym-Muster der Tumoren mit denen ihrer Muttergewebe fällt dagegen eine weitgehende Ähnlichkeit auf. In Abb. 2 wird dies an einem individuellen Fall, in Abb. 3 an der Gegenüberstellung der Mittelwerte der Enzym-Aktivitäten von Tumoren und ihren Muttergeweben demonstriert.

Der eingehendere Vergleich der Enzym-Muster der Tumoren und ihrer Muttergewebe zeigt jedoch, daß sich die Tumor-Muster recht konstant durch einige Besonderheiten auszeichnen. Die Enzyme, die dem enzymatischen Überbau für besondere Leistungen zuzurechnen sind (GDH, SODH, ADH und PFA),

weisen bei den Tumoren deutlich geringere, die Enzyme des Pentosephosphat-Cyclus (ZF, PGDH) dagegen deutlich höhere Aktivitäten auf.

Die auch unter praktischem Aspekt bedeutsame Frage der Ähnlichkeit zwischen Primärtumor und Metastasen konnten wir an einem Hypernephrom untersuchen. Die Abb. 4 zeigt die deutlichen Unterschiede in den Enzym-Relationen.

II. Isozym-Verteilung

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Isozym-Verteilung in verschiedenen menschlichen Tumoren und Geweben sind in den Abb. 5–9 dargestellt.

Die Abbildungen demonstrieren, daß die einzelnen Organe verschieden ausgeprägte Unterschiede der Isozym-Verteilung aufweisen. Auffällig gering sind die Unterschiede zwischen den funktionell weitgehend verschiedenartigen Abschnitten der Schleimhaut des Magen-Darm-Traktes. Die prozentuale Verteilung für die Isozyme von GOT, MDH, ENO und GAPDH sind in Tabelle 2 und 3 zusammengestellt.

Die GOT ist in allen untersuchten Geweben in zwei Fraktionen nachweisbar, von denen die nicht-haftende — zumindest in der Leber — dem mitochondrialen Raum zugerechnet werden kann. Dies gilt ebenso für die MDH. Hier findet sich jedoch eine variabelere prozentuale Verteilung der Gesamt-Aktivität auf die einzelnen Fraktionen. Auch GAPDH und ENO, von denen keine mitochondriale Komponente bekannt ist, zeigen einen Hauptgipfel in der nichthaftenden Fraktion und einen schwerer eluierbaren kleinen Nebengipfel. Die PK läßt sich in Uterusmuskulatur und Myom nur in einer Fraktion nachweisen. Auch der Hauptanteil der Aldolase von Dickdarm-Schleimhaut und Carcinom haftet nicht an DEAE-Cellulose. Mit zunehmender Ionenstärke lassen sich noch einige kleinere Fraktionen eluieren.

Die LDH zeigt, wie die Abb. 9 und die Tabelle 3 demonstrieren, im Gegensatz zum Ungleichgewicht der Verteilung zugunsten der ersten Fraktion in der Leber, in den übrigen untersuchten Organen bis zu sechs ausgeprägte Gipfel. Beim Vergleich von Muttergeweben und Tumoren fällt bei der LDH als Besonderheit auf, daß die Aktivität bei den Carcinomen in Fraktion II konstant höher ist als bei den entsprechenden Muttergeweben. Das (gutartige) Myom bildet hier die Ausnahme.

Diskussion

Über vergleichende Untersuchungen des Enzym-Gehaltes von Tumoren und Normalgeweben liegt bereits ein großes Erfahrungsgut vor, das im wesentlichen an experimentellen Tiertumoren gewonnen wurde (zusammengefaßt in^{5, 17, 21}). Generell wurden starke quantitative Unterschiede im Enzym-Gehalt von Tumoren und Normalgeweben gefunden. GREENSTEIN¹⁷ berichtete, daß die Enzym-Muster verschiedener Tiertumoren weitgehend unabhängig sind von Tierart, Sitz, Alter, Wachstumsgeschwindigkeit und Muttergewebe. Untereinander weisen sie eine viel größere Ähnlichkeit auf als gegenüber ihren Muttergeweben oder als Normalgewebe untereinander. Primäre Tumoren können dabei noch einzelne Charakteristika ihres Muttergewebes zeigen; sie nähern sich aber nach verschiedenen Transplantierungs-

* Für die Einführung in die Methode möchten wir herzlich danken.

Generationen einem uniformen Muster, in dem alle spezialisierten Funktionen, die für das Ursprungsgewebe charakteristisch sind, verloren gingen. Gegenüber dieser These von der Uniformierung der enzymatischen Ausrüstung der Tumorzellen scheinen unsere Befunde, die an einem Spektrum von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels, aber auch spezifischer Stoffwechselwege gewonnen wurde, in Widerspruch zu stehen. Wir fanden, daß die primären menschlichen Tumoren untereinander deutliche Unterschiede in dem von uns untersuchten Enzym-Muster aufweisen, die durchaus denen normaler Gewebe und Organe an die Seite gestellt werden können, und es zeigte sich darüber hinaus auch eine teilweise überraschende Ähnlichkeit zwischen den Tumoren und ihren Muttergeweben.

Die Bezeichnung „Muttergewebe“ für die Gewebe, aus denen sich der Primärtumor entwickelt, ist unter dem Aspekt der vergleichenden Enzymologie infolge der Heterogenität der Zellarten eines Gewebes problematisch. Da „wir aber bestrebt sein müssen, die Geschwülste vor dem Hintergrund des Normalorgans oder Normalgewebes zu sehen, dem sie ja in engerer oder weiterer Verwandtschaft zugehören“ (HAMPERL¹⁸), und Eigentümlichkeiten eines Tumors von seinem Ausgangsgewebe bestimmt werden³⁹, zudem auch wiederholt die Rekrutierung von Nachbarzellen in den Tumor diskutiert wurde^{12, 13}, erscheint uns sowohl der angewandte Terminus wie die vergleichende Betrachtung gerechtfertigt. Eine Bestätigung für diese Auffassung sehen wir in der überraschenden Ähnlichkeit der Enzym-Muster der Tumoren mit ihren Muttergeweben, die sich deutlich von den größeren Unterschieden zwischen den einzelnen Tumoren und anderen Geweben abhebt.

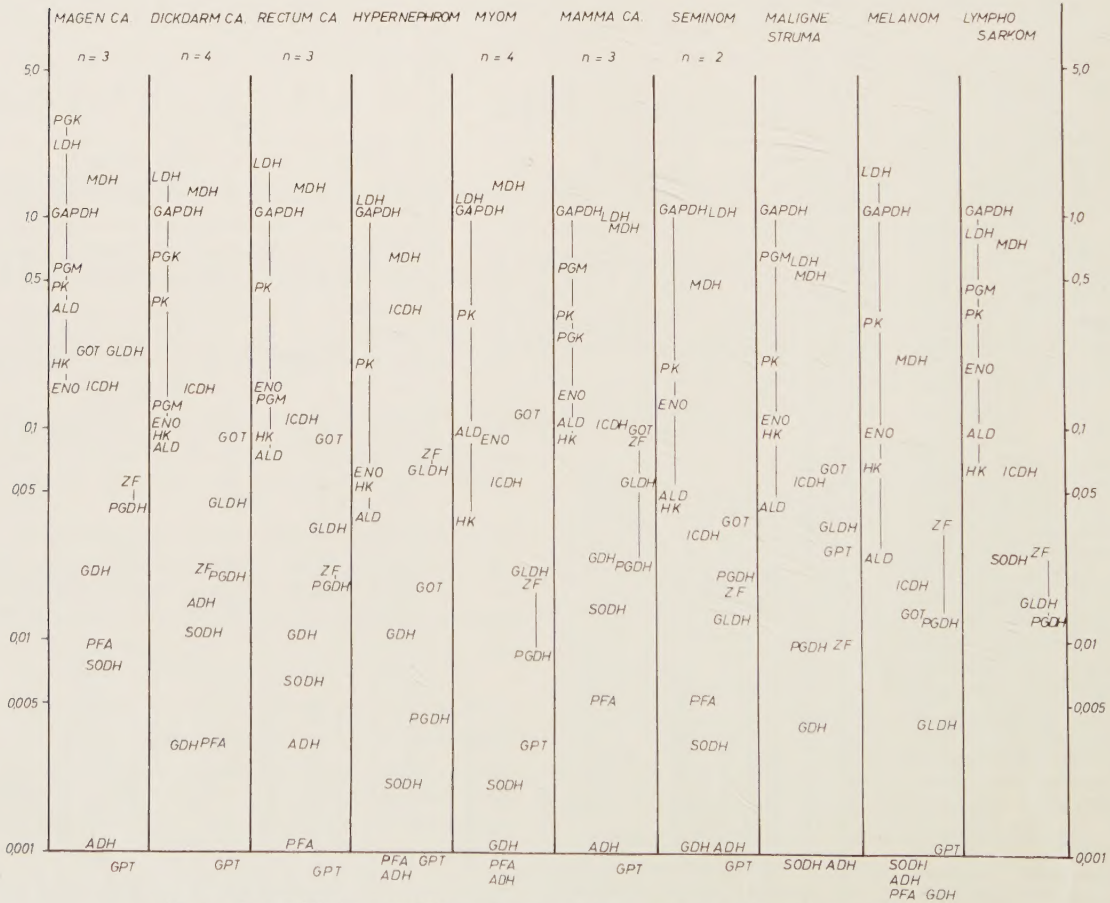
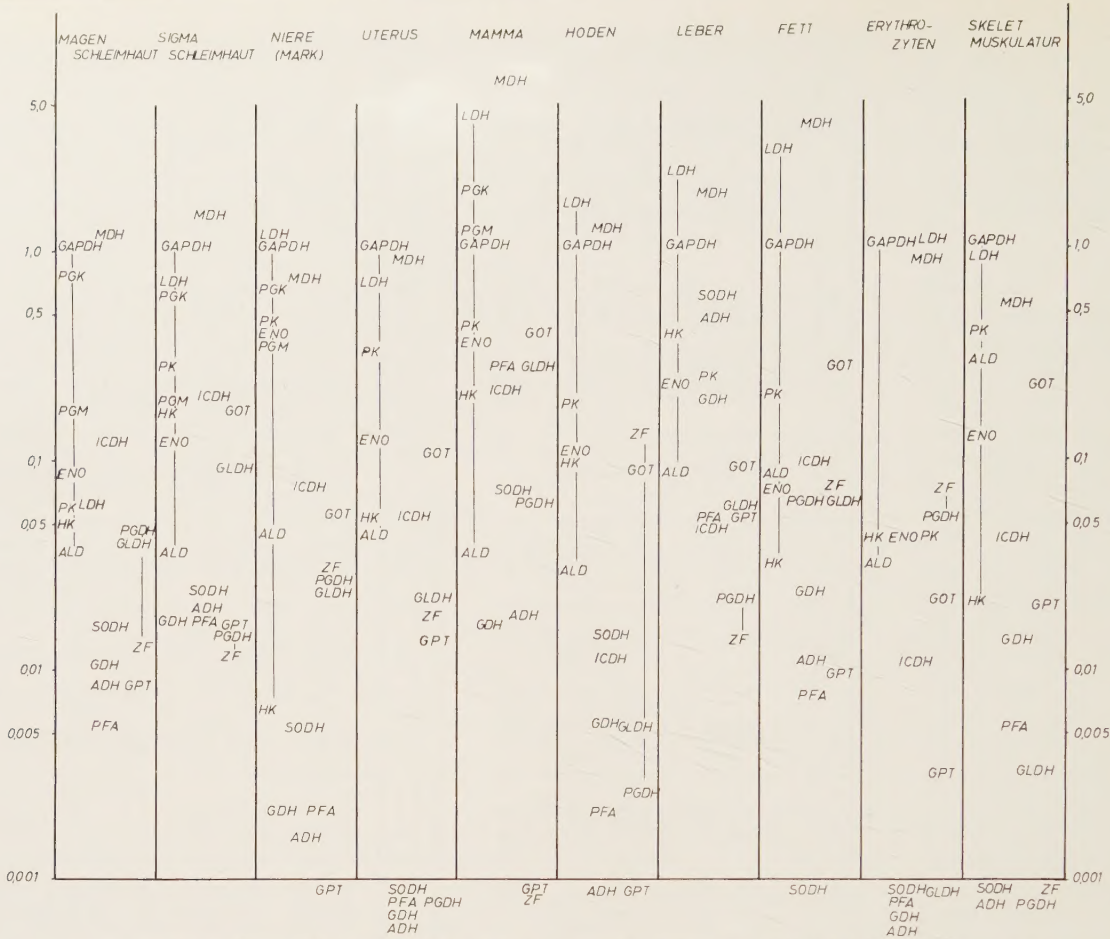
Tabelle 1a. Enzymaktivitäten in normalen menschlichen Geweben. Angegeben in mU/mg Extraktprotein

	PGK	PGM	HK	ALD	GAPDH	ENO	PK	LDH	GDH	MDH	GOT	GPT	ZF	PGDH	GLDH	ICDH	ADH	PFA	SODH
Magenschleimhaut, n = 5	914	187	57,5	40,8	1165	97,0	613	654	11,9	1325	228	9,7	19,4	49,8	40,6	137	9,3	6,9	18,5
Sigmaschleimhaut	1103	351	305	64,0	1894	215	407	1299	31,1	2671	305	29,2	20,1	29,2	164	367	32,9	31,1	43,9
Rectumschleimhaut	1271	146	109	67,7	—	120	431	947	—	1363	106	<1	12,8	21,9	124	124	7,3	5,4	9,1
Niere (Mark)	1437	796	14,6	98,8	2366	331	999	2593	5,4	1573	129	<1	69,5	58,5	54,9	168	3,6	5,4	10,9
Niere (Rindenmarkgrenze)	628	—	67,7	102	1385	69,5	673	1134	1,8	808	64,0	<1	—	168	25,6	53,0	1,8	3,6	5,4
Hoden *	—	—	398	124	4181	439	741	6644	20,1	4977	358	<1	578	102	20,1	444	<1	9,1	56,7
Uterus, n = 3	—	—	20,0	9,1	362	25,6	108	247	<1	337	40,3	9,1	9,1	<1	10,9	10,9	<1	<1	<1
Mamma, Drüsenorgane, n = 2	131	43,9	10,9	9,1	38,4	9,1	29,2	272	12,8	281	20,1	<1	<1	2,7	12,8	10,8	12,8	12,8	3,2
Chronisch-entzündete Mamma	86	36,6	10,9	18,3	320	32,9	—	278	<1	195	9,1	<1	3,6	7,3	7,3	16,4	1,4	10,9	9,1
Leber, n = 30	—	—	256	58,6	695	151	159	1500	128	1226	622	366	9,2	14,6	402	311	311	34	384
Lymphknoten	—	—	109	73,2	1720	292	567	1793	<1	1555	148	3,7	23,8	10,9	51,2	86,0	5,5	1,8	5,5
Lunge	—	—	62,2	32,9	1143	34,8	322	1532	3,7	1065	29,3	1,8	29,3	36,9	56,7	40,3	12,8	<1	42,1
Magenmuscularis	—	—	53,0	60,4	1212	115	376	1168	1,8	1081	93,3	1,8	10,9	3,7	14,6	60,4	<1	1,8	5,5

* Sektionsmaterial.

Tabelle 1b. Enzymaktivitäten in menschlichen Tumoren. Angegeben in mU/mg Extraktprotein

	PGK	PGM	HK	ALD	GAPDH	ENO	PK	LDH	MDH	GDH	GOT	GPT	ZF	PGDH	GLDH	ICDH	ADH	PFA	SODH
Magenkarzinom, n = 4	1387	354	77,9	61,5	1008	86,0	331	1072	1303	14,1	174	8,1	32,2	21,4	77,2	108	8,2	8,9	4,6
Dickdarmkarzinom, n = 6	1119	205	98,8	129	1634	220	745	2615	1811	10,1	109	<1	31,5	21,6	61,1	212	4,6	4,8	12,6
Hypernephrom	2206	—	232	155	4254	239	849	4598	2680	44,3	74,7	<1	330	20,9	24,9	154	1,3	4,2	8,8
Hypernephrommetastase:																			
Haut	2413	231	—	420	3144	316	5731	1581	786	14,3	91	<1	21,6	27,6	18,3	71,2	9,0	7,5	11,5
Rippe	1249	160	66,4	82,7	1670	133	446	1670	592	4,9	53,8	20,7	28,0	7,7	40,4	47,2	<1	4,4	4,9
Seminom, n = 2	—	—	153	163	3713	465	737	3655	1628	6,8	114	<1	64,9	69,2	42,8	113	2,4	3,7	11,5
Myom, n = 4	—	—	21,9	49,4	622	51,2	177	669	752	<1	62,2	1,8	7,3	7,3	12,8	31,1	<1	<1	<1
Myofibrom	—	—	9,2	16,5	344	38,4	71,4	539	225	<1	12,8	<1	<1	1,8	5,5	12,8	<1	<1	<1
Collumkarzinom	—	—	21,9	98,8	1855	336	1484	1855	825	<1	117	<1	1,8	29,3	47,6	54,9	<1	2,2	5,1
Mammakarzinom, n = 3	73,0	145	26,0	34,4	326	41,5	105	328	301	7,1	28,7	<1	24,0	6,8	14,1	31,5	<1	5,1	6,2
Mammakarzinom der Mamma	—	—	10,8	<1	292	16,7	172	739	406	<1	58,6	12,8	<1	<1	24,3	7,1	<1	<1	<1
Fibroadenom der Mamma	693	—	105	47,4	1156	121	243	755	640	4,8	71,4	32,0	10,6	11,3	38,6	67,3	1,8	1,8	13,2
Maligne Schilddrüse	1652	710	552	212	1903	428	65,8	3886	4820	18,7	347	<1	<1	83,3	360	216	17,6	28,4	324
Strumareizidiv	841	898	102	67,9	1504	115	392	1564	1331	81,3	248	<1	80,3	7,3	61,3	173	19,0	6,0	30,6
Prostataadenom, n = 2	969	—	142	153	1815	249	939	1196	1036	2,9	136	<1	46,8	33,7	48,7	125	2,6	3,1	1,8
„Brauner Tumor“	1233	—	159	247	2693	505	814	2115	1862	3,5	<1	<1	72,1	33,7	42,1	179	<1	3,5	63,5
Lymphosarkom	—	—	262	135	5700	517	1732	8549	1366	<1	75,9	18,7	193	77,2	27,5	99,6	<1	<1	<1
Melanommetastase	—	—	378	91,5	2768	276	517	5625	4878	57,3	1147	660	660	29,0	49,6	298	33,7	25,6	81,6
Retothelsarkom der Leber	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—



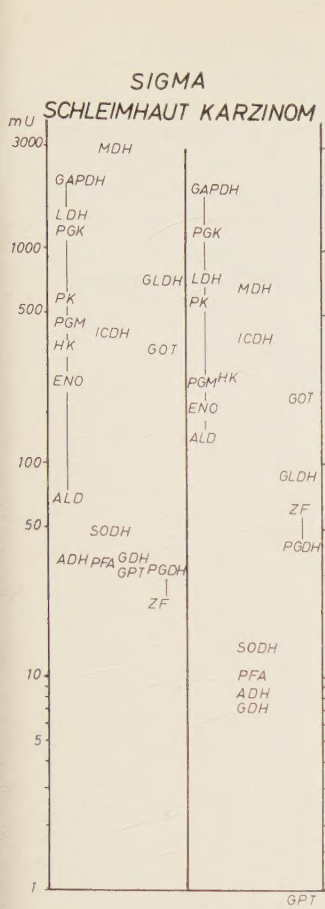


Abb. 2

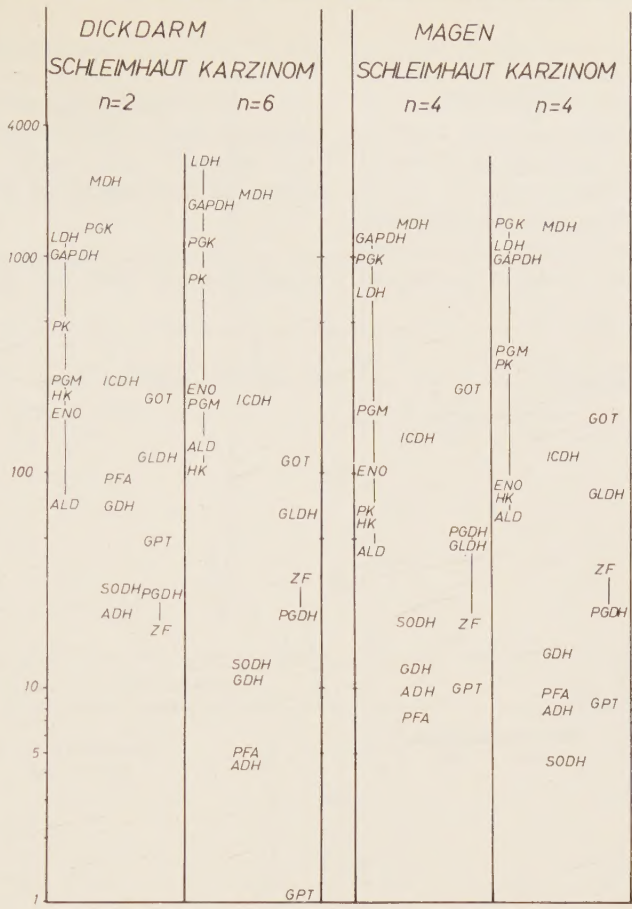


Abb. 3

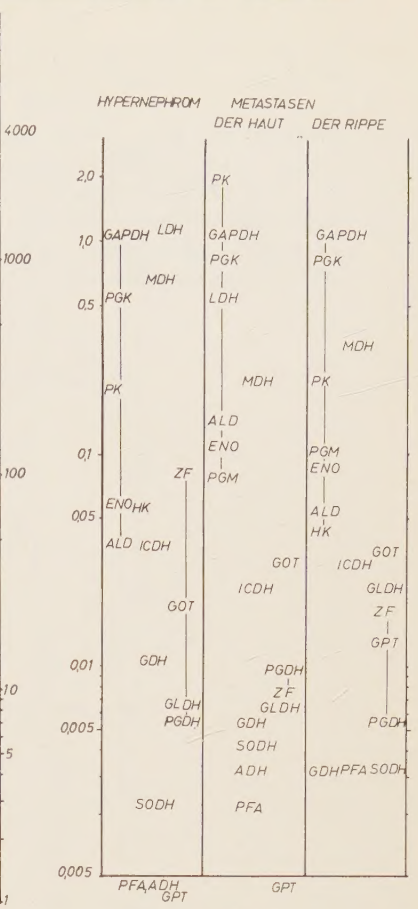


Abb. 4

Abb. 2. Enzym-Muster von Tumor und Muttergewebe (Pat. Ha). Aktivität in mU/mg Extrakt-Protein

Abb. 3. Enzym-Muster von Tumor und Muttergewebe (Durchschnitts-Werte). Aktivität in mU/mg Extrakt-Protein

Abb. 4. Hypernephrom und Hypernephrom-Metastasen. Aktivität der GAPDH = 1

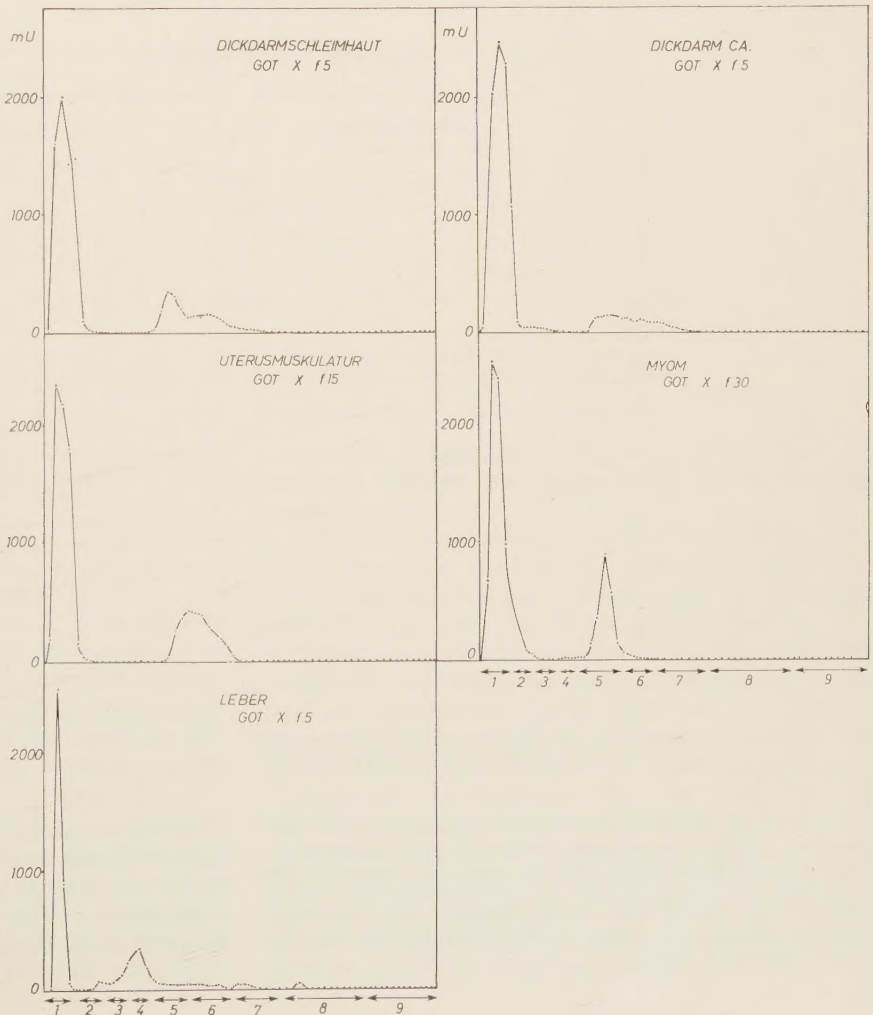


Abb. 5. Isozyme der GOT in Tumoren und ihren Muttergeweben. Aktivität in mU/ml Eluat

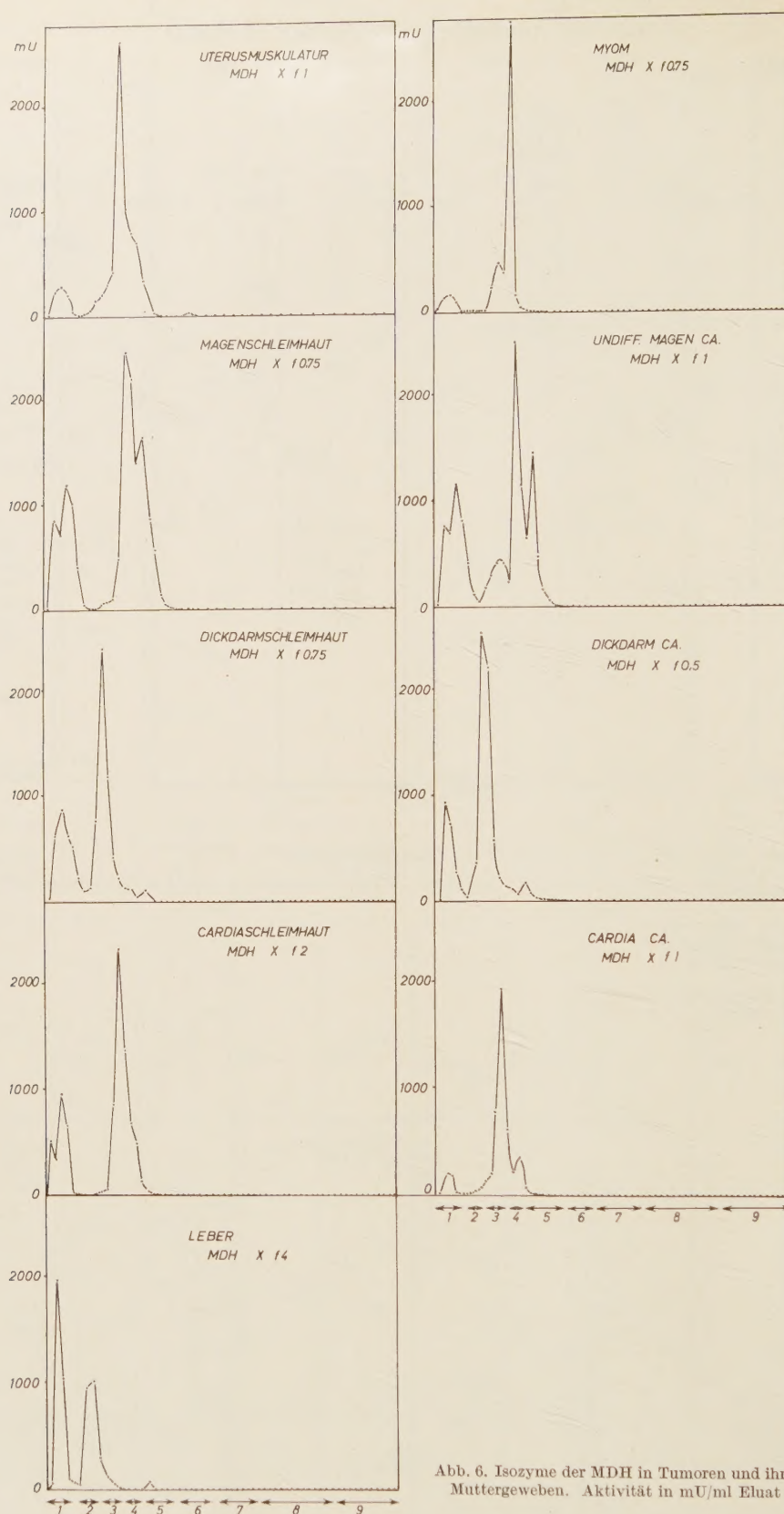


Abb. 6. Isozyme der MDH in Tumoren und ihren Muttergeweben. Aktivität in mU/ml Eluat

Diese Ähnlichkeit ist sicher nicht durch einen ins Gewicht fallenden Gehalt von normalen Zellen in den Tumoren bedingt. Als indirekter Beleg hierfür kann die Entnahme aus den soliden Tumorpartien und das histologische Bild, besonders aber der Verlust von in den Muttergeweben nachweisbaren Enzymen spezifischer Stoffwechselwege in den Tumoren betrachtet werden.

Trotz dieser Ähnlichkeit der von uns untersuchten Enzym-Muster zwischen Tumoren und Muttergeweben finden sich jedoch bei ersteren konstant einige Eigentümlichkeiten, die besonders bei Relativierung des Musters durch Bezug auf ein Enzym deutlich werden.

Als Bezugs-Enzym wählten wir hier, da bei Tumoren Verminderungen der Mitochondrien-Zahl und Schädigungen der Mitochondrien-Strukturen beobachtet wurden^{1-3, 7, 8}, die GLDH. Die jeweiligen Aktivitäten dieses mitochondrialen Enzyms vermitteln einen Anhalt für die Intaktheit und Leistungs-breite des Chondrioms.

Diese Vorstellung gründet sich im wesentlichen auf den experimentellen Befund, daß bei stark unterschiedlichen

suchten Aktivitäten glykolytischer Enzyme zu der Summe der Aktivitäten der Enzyme oxydativer Abbaue in Relation setzten.

Die Gegenüberstellung zeigt, daß die menschlichen Tumoren zwar durchschnittlich höhere Aktivitäten an glykolytischen Enzymen aufweisen; sie demonstriert aber auch, daß die gleichen Relationen wie bei den Tumoren auch bei verschiedenen Normalgeweben gefunden werden. Die Ausstattung der Tu-

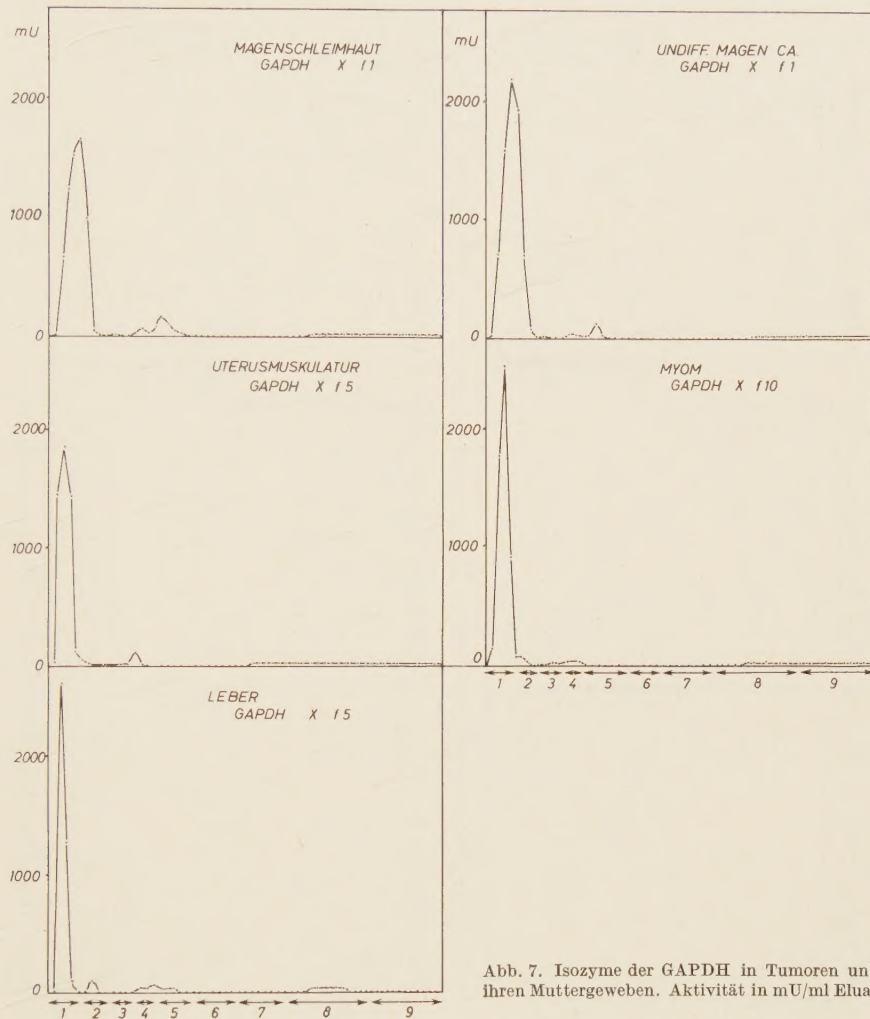


Abb. 7. Isozyme der GAPDH in Tumoren und ihren Muttergeweben. Aktivität in mU/ml Eluat

Aktivitäten dieses Enzyms in der normalen und entzündeten Leber ein gleiches Verhalten bei der Elution aus den Mitochondrien auf eine korrespondierende Verminderung der Größe des Chondrioms schließen läßt³¹, und wird durch die Parallelität zwischen Abnahme der Aktivität der GLDH und der Verringerung der oxydativen Phosphorylierung bei akuten und chronischen Lebererkrankungen gestützt^{10, 26}.

Der Vergleich zwischen Tumor und Muttergewebe in Abb. 10 zeigt, daß beim Tumor die Enzyme, die zum enzymatischen Überbau gerechnet werden können, absolut vermindert sind, die beiden Pentosephosphat-Cyclus-Enzyme deutlich ansteigen und auch die Enzyme des Embden-Meyerhof-Weges deutlich erhöhte Aktivitäten aufweisen.

Da sich die Tumoren durch eine gesteigerte aerobe Glykolyse auszeichnen^{33, 34}, ist besonders ihre Ausstattung mit Enzymen dieses Stoffwechselweges interessant. In Abb. 11 haben wir diesen Aspekt noch einmal vergleichend herausgestellt, indem wir den prozentualen Anteil der Summe der von uns unter-

moren mit glykolytischen Enzymen bewegt sich also durchaus noch in dem weiten Rahmen der Normalgewebe.

Wir dürfen annehmen, daß die Höhe der Enzym-Aktivitäten das Ausmaß des Substrat-Durchsatzes durch den betreffenden Stoffwechselweg widerspiegelt^{14, 15}. Die bei den Tumoren beobachtete Veränderung des Enzym-Musters läßt demnach den Schluß zu, daß hier einerseits eine Vergrößerung des Substrat-Durchsatzes durch Glykolyse und Pentosephosphat-Cyclus erfolgt, andererseits eine deutliche Einschränkung spezifischerer Zell-Leistungen eintritt: Stoffwechselveränderungen, die uns von Tumoren und Embryonalgeweben vertraut sind. In wesentlich diskreterer Form als bei den experimentellen Tumoren findet sich also auch bei den primären menschlichen Tumoren die Tendenz zur Uniformierung, zur Einschränkung spezialisierter Stoffwechselleistungen zugunsten primitiver Stoffwechselwege.

Die menschlichen Tumoren weisen eine viel engere Verwandtschaft zu ihren Muttergeweben auf als die experimentellen Tiertumoren. Als Beispiel hierfür kann die GDH herangezogen werden, die in den meisten Tiertumoren nicht mehr⁹, in der Mehrzahl der von uns untersuchten Tumoren noch nachzuweisen ist.

Die von uns gefundenen höheren Aktivitäten der beiden Eingangs-Enzyme des Pentosephosphat-Cyclus

gleiche Verhalten zeigt z. B. auch das Enzym-Muster der Leber bei einer Hepatitis.

Die bei den Enzym-Mustern auffallende Ähnlichkeit zwischen den Tumoren und ihren Muttergeweben zeigt sich auch an der *Verteilung der Isozyme*. Wir fanden bei chromatographischer Trennung an DEAE-Cellulose ein weitgehend übereinstimmendes Verhalten hinsichtlich Adsorption und Eluierbarkeit und somit auch der prozentualen Verteilung auf die einzelnen



Abb. 8. Isozyme von ENO, ALD und PK in Tumoren und ihren Muttergeweben. Aktivität in mU/ml Eluat

in den untersuchten Tumoren beobachteten auch VILLAVICENCIO und BARRON³² in Lymphosarkom-Zellen verglichen mit normalem lymphatischem Gewebe. Zur möglichen Bedeutung dieses Befundes können die Ergebnisse von GLOCK und McLEAN herangezogen werden¹⁶, die unter weit variierten Bedingungen der Ernährung und des Hormonspiegels eine enge Korrelation zwischen der Aktivität der beiden Enzyme und dem Nucleinsäuregehalt fanden. Dem entspricht ein in den Tumoren bis auf das Vierfache erhöhter RNS-Gehalt⁶. Aber so wenig wie der Anstieg der beiden Pentosephosphat-Cyclus-Enzyme, den wir bei Zellschäden verschiedener Ätiologie nachweisen konnten²⁸⁻³⁰, darf auch die Schrumpfung der speziellen Vielfalt der Zell-Funktion, wie sie uns bei den menschlichen Tumoren in der Verarmung des Enzym-Musters entgegentritt, als spezifische Besonderheit der Tumorzelle betrachtet werden. Das

Fraktionen Geringe, aber konstante Unterschiede zeigt allein die LDH, die bei den untersuchten Tumoren stets relativ höhere Aktivitäten in Fraktion II aufweist.

Auf Besonderheiten der Isozym-Verteilung der LDH bei menschlichen Tumoren machten erstmals PFLEIDERER und WACHSMUTH²⁵ aufmerksam. Sie fanden bei elektrophoretischer Trennung, daß sich menschliche Tumoren verschiedenen Ursprungs im Gegensatz zur Heterogenität der LDH-Isozym-Verteilung in normalen menschlichen Geweben durch ein Maximum der Aktivitäten in den am weitesten kathodisch wandernden Banden auszeichnen, also sich der Isozym-Verteilung der LDH in der Leber annähern.

Auf Grund ihrer ausgedehnten Studien an menschlichen Geweben verschiedenen Reifegrades demonstrierten sie eine alters- und funktionsabhängige Differenzierung der LDH-Isozym-Verteilung^{25, 36-38}. Das beim Feten in den mittleren Banden zu findende Maximum der Aktivität verschiebt sich mit der Differenzierung des Gewebes parallel zu seinem Sauerstoff-Bedarf zu einem „aeroben Typ“ mit einem Maximum in den anoden-nahen Banden oder zu einem „anaeroben

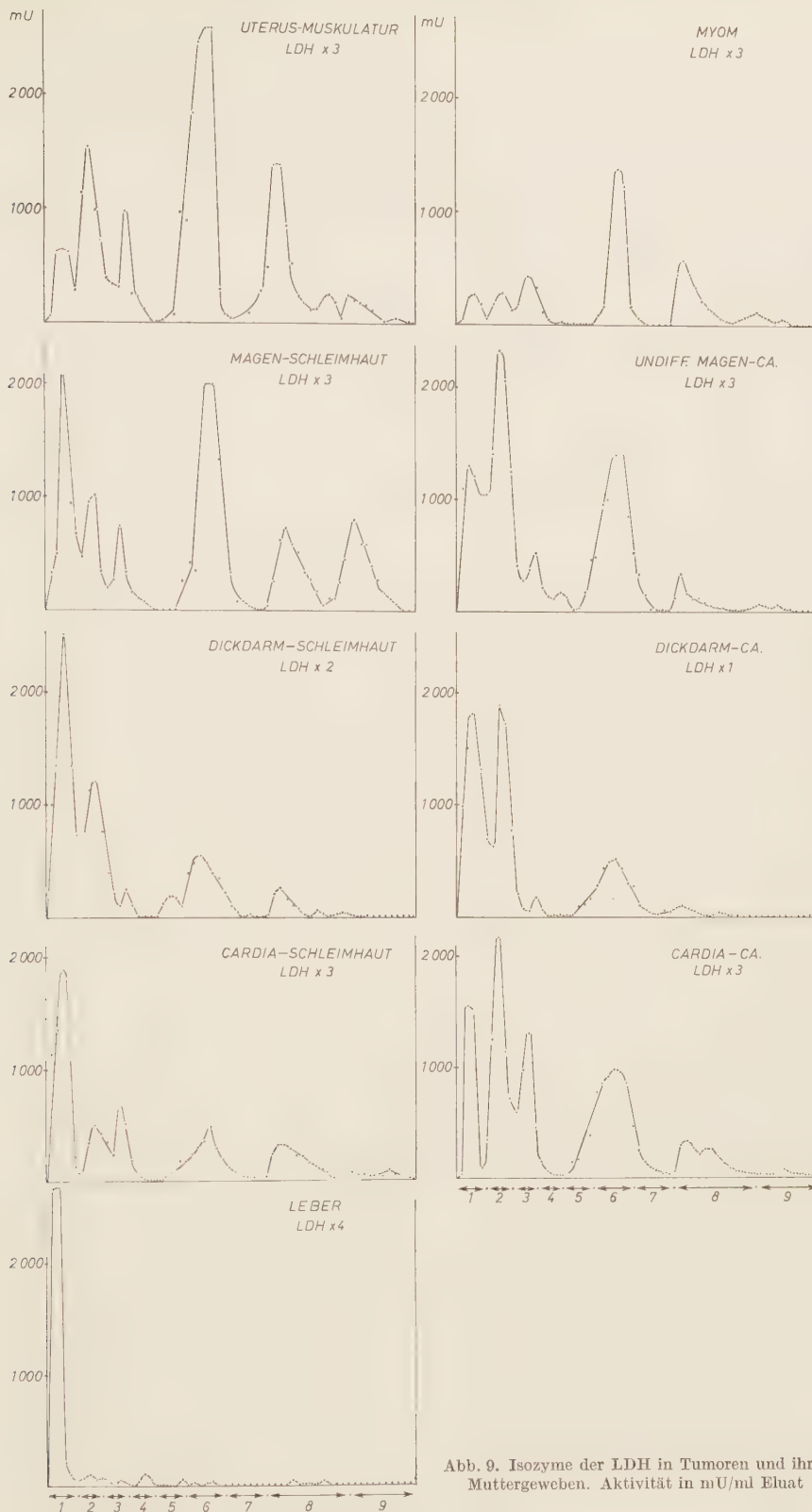


Abb. 9. Isozyme der LDH in Tumoren und ihren Muttergeweben. Aktivität in mU/nl Eluat

Typ^{cc} mit einem Maximum in den zur Kathode wandernden Banden. Im Hinblick auf die bei ihnen gesteigerte aerobe Glykolyse fügen sich die Tumoren mit dem bei ihnen beobachteten Maximum der Aktivität in kathoden-nahen Banden gut in diese Vorstellung ein.

Den kathoden-nahen Banden bei elektrophoretischer Trennung entsprechen unsere ersten Fraktionen. Die Abb. 9 demonstrierte, daß auch wir in diesen Fraktionen bei den von uns untersuchten

Carcinomen die höchsten Aktivitäten der LDH fanden. Der Vergleich mit den Muttergeweben zeigt jedoch, daß hier diese Verteilung keine Besonderheit darstellt, da sie weitgehend der der Muttergewebe entspricht.

Eine solche Übereinstimmung ist übrigens auch zumindest für die Hälfte der von PFLEIDERER und WACHSMUTH untersuchten Tumoren wahrscheinlich; allerdings fanden sie auch Maxima in kathoden-nahen Banden bei Tumoren, deren Muttergewebe andere Isozym-Verteilungen aufwiesen.

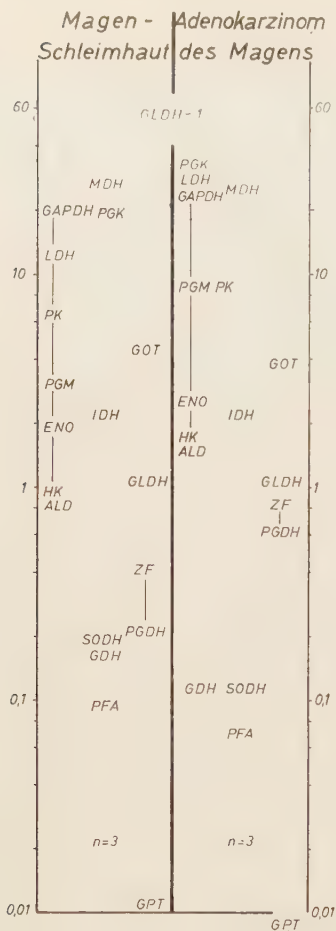


Abb. 10

Tabelle 2. Verteilung der Isozyme von MDH, GOT, GAPDH und ENO in Tumoren und ihren Muttergeweben

		Magen		Kardia		Dickdarm		Uterus	
		Tumor	Schleimhaut	Tumor	Schleimhaut	Tumor	Schleimhaut	Myom	Muskel
		%	%	%	%	%	%	%	%
MDH	Fraktion I	33,4	29,9	9,0	30,0	30,0	36,0	9,3	10,5
	Fraktion II	66,6	70,1	91,0	70,0	70,0	64,0	90,7	89,5
GOT	Fraktion I					88,4	74,5	76,0	71,2
	Fraktion II					11,6	25,5	24,0	28,8
GAPDH	Fraktion I	96,8	92,4					100,0	95,5
	Fraktion II	3,2	7,6					0,0	4,5
ENO	Fraktion I	99,1	97,9						
	Fraktion II	0,9	2,1						

Tabelle 3. Verteilung der Isozyme der LDH in Tumoren und ihren Muttergeweben

		Kardia		Magen		Dickdarm		Uterus	
		Tumor	Schleimhaut	Tumor	Schleimhaut	Tumor	Schleimhaut	Tumor	Muskel
		%	%	%	%	%	%	%	%
Fraktion I		15,0	38,1	17,2	20,8	39,9	43,1	6,9	6,6
		27,0	12,6	35,9	9,7	33,8	27,0	8,2	17,0
Fraktion II		14,6	11,0	7,4	6,7	2,6	2,9	14,3	8,3
		32,0	19,0	33,5	35,9	19,8	20,5	41,7	41,4
Fraktion III		5,1	15,0	4,4	13,3	2,8	5,0	22,9	20,3
		6,3	4,3	1,6	13,6	1,1	1,5	6,0	6,4
Fraktion IV									
Fraktion V									
Fraktion VI									

Abb. 10. Enzym-Muster von Schleimhaut und Adeno-Carcinom des Magens. Bezug: Aktivität der GLDH = 1

Abb. 11. Aktivitäten glykolytischer Enzyme — Aktivitäten der Enzymeoxydativer Abbaue in Prozent der Gesamt-Aktivität

Abb. 12. Enzym-Aktivitäten in normaler Leber und Leber bei Hepatitis, sowie Dickdarm-Schleimhaut und Dickdarm-Carcinom

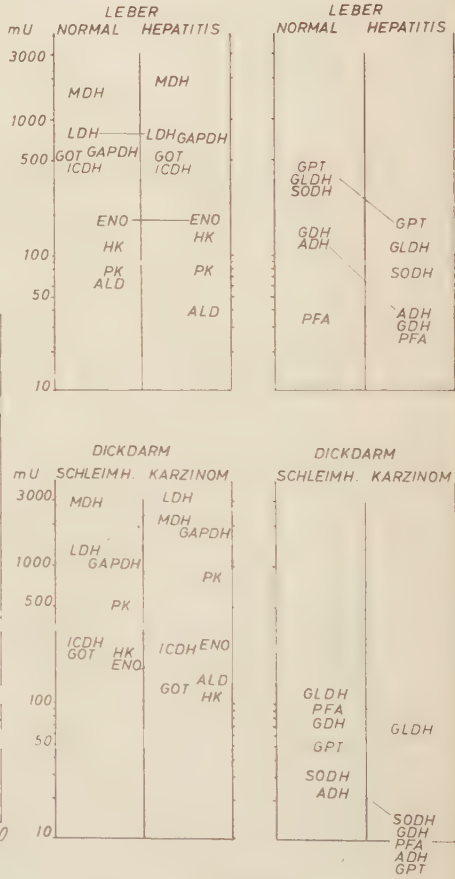
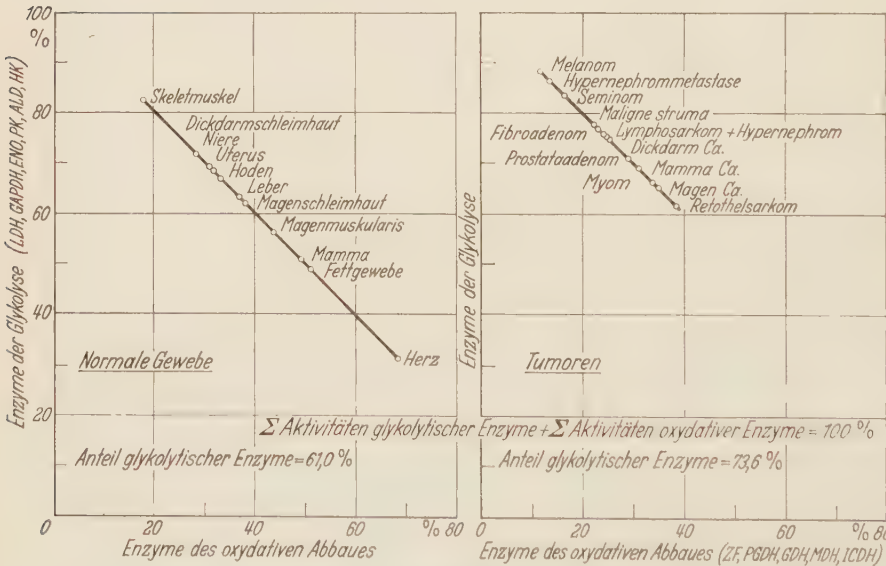


Abb. 11

Abb. 12



Schließt man sich der Auffassung PFLEIDERERS an, daß Aktivitäts-Maxima der LDH-Isozyme in den kathoden-nahen Banden ganz allgemein einem anaeroben Stoffwechseltyp zuzuordnen sind, so ist die Übereinstimmung zwischen Tumoren und zahlreichen zum gleichen Stoffwechseltyp gehörenden Muttergeweben verständlich und zu erwarten.

Von besonderem Interesse erscheint uns jedoch die Verschiebung der Aktivitäten der LDH innerhalb der ersten Fraktionen zugunsten schwerer eluierbarer Anteile bei den untersuchten Carcinomen. Hier scheint sich über den Stoffwechseltyp hinaus eine spezifische Besonderheit in der LDH-Isozym-Ausstattung des Tumors anzudeuten, die nach den Befunden PFLEI-

DERERs als Verschiebung in Richtung auf das allgemeine Embryonal-Muster interpretiert werden kann. In diese Vorstellung lassen sich auch die Ergebnisse von STARKWEATHER und SCHOCH²⁷ einfügen, die bei der Untersuchung von Tumoren, deren vermutliche Muttergewebe sich durch hohe Aktivitäten in den mittleren Banden auszeichnen, auch hier die maximalen Aktivitäten, darüber hinaus aber auch einen Verlust der beiderseitigen Rand-Fraktionen fanden.

Unter diesem Aspekt und in Hinblick auf die Hypothese von ELIAS^{12, 13}, der auf Grund histochemischer Untersuchungen eine Weitergabe von Tumoreigenschaften an normale Nachbarzellen postulierte, ist besonders erwähnenswert, daß STARKWEATHER und SCHOCH bei Leber-Metastasen eines Tumors mit einem Aktivitäts-Maximum in den mittleren Banden eine Verschiebung des kathodischen Maximums der LDH-Isozym-Verteilung der Leber zu den mittleren Banden in den den Tumor umgebenden Leberpartien fanden.

Die bisherigen Ergebnisse gestatten jedoch noch keine sichere Aussage, ob die Isozym-Verteilung der LDH in Tumoren allein einen bestimmten Stoffwechseltyp widerspiegelt, oder ob darüber hinaus noch eine weitere Regression in Richtung auf die Embryonalausstattung eintreten kann.

Zusammenfassung. In 33 menschlichen Tumoren und den korrespondierenden Normalgeweben wurden die Aktivitäten folgender Enzyme bestimmt:

Alkohol-Dehydrogenase, Aldolase, Enolase, Glycerinaldehyd-Phosphat-Dehydrogenase, α -Glycerophosphat-Dehydrogenase, Glutamat-Dehydrogenase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Hexokinase, Isocitrat-Dehydrogenase, Lactat-Dehydrogenase, Malat-Dehydrogenase, Fructose-1-Phosphat-Aldolase, 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase, 3-Phosphoglycerat-Kinase, 3-Phosphoglycerat-Mutase, Pyruvat-Kinase, Sorbit-Dehydrogenase, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Zwischenferment).

Der Vergleich der Enzym-Muster zeigte dem Verhalten der Normalgewebe entsprechende Unterschiede bei den einzelnen Tumoren, aber eine überraschende Ähnlichkeit mit dem Muttergewebe. Die gegenüber dem Muttergewebe zu beobachtende Abweichung der Tumor-Muster entspricht den hier zu beobachtenden Stoffwechselveränderungen. Die Auftrennung der Isozyme von Lactat-Dehydrogenase, Malat-Dehydrogenase, Enolase, Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase, Aldolase und Pyruvat-Kinase an DEAE-Cellulose bei vier Tumoren und ihren Muttergeweben ergab eine weitgehend gleiche Verteilung der Fraktionen, allein die Lactat-Dehydrogenase zeigt bei den Tumoren ein abweichendes Verhalten.

Literatur. ¹ ALLARD, C., G. DE LAMIRANDE und A. CANTERO: Mitochondrial population in mammalian cells: Variation in the mitochondrial population of the average rat liver cells during regeneration. Use of the mitochondria as a unit of measurement. *Cancer Res.* **12**, 580 (1952). — ² ALLARD, C., G. DE LAMIRANDE und A. CANTERO: Mitochondrial population in mammalian cells: Preliminary results on the variation azodyes carcinogenesis. *Canad. J. med. Sci.* **30**, 543 (1952). — ³ ALLARD, C., G. DE LAMIRANDE und A. CANTERO: Mitochondrial population in mammalian cells: Number of mitochondria per average cell of rat liver tumor induced by 4-dimethylamino-azobenzene. Significance in the comparative study of the mitochondrial fraction properties of normal tissues and tumors. *Canad. J. med. Sci.* **31**, 103 (1953). — ⁴ BEISENHERZ, G., H. J. BOLTZE, Th. BÜCHER, R. CZOK, K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDT u. G. PFLEIDERER: Diphosphofructose - Aldolase, Phosphoglyceraldehyd-Dehydrogenase, Milchsäure-Dehydrogenase, Glycerophosphat-Dehydrogenase

und Pyruvat-Kinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang. *Z. Naturforsch.* **8b**, 555 (1953). — ⁵ BERGEL, F.: Chemistry of enzymes in cancer. Amer. lectures series, Publication Nr. 424. Springfield (Ill.): Ch. C. Thomas 1961. — ⁶ BÜCHNER, F., E. GRUNDMANN u. W. OEHLERT: Die experimentelle Kanzerisierung der Parenchymzelle. *Dtsch. med. Wschr.* **39**, 1845 (1961). — ⁷ COOPER, Z. K., and M. G. SEE-LING: Quantitative study of mitochondria in various grades of squamous cell carcinoma. *Arch. Path.* **19**, 524 (1935). — ⁸ DALTON, J. A., and J. E. EDWARDS: Mitochondria and Golgi-Apparatus of induced and spontaneous hepatomas in the mouse. *J. nat. Cancer Inst.* **2**, 565 (1942). — ⁹ DELBRÜCK, A., H. SCHIMASSEK, K. BARTSCH u. Th. BÜCHER: Enzymverteilungsmuster in einigen Organen und in experimentellen Tumoren der Ratte und der Maus. *Biochem. Z.* **331**, 297 (1959). — ¹⁰ DE RITIS, F., A. ASCIONE, M. COLTORTI, G. GIUSTI e L. MALLUCCI: Epatite virale. *G. Mal. infett.* **11**, 1 (1959). — ¹¹ DICKENS, F.: The hexomonophosphate oxidative pathway of yeast and animal tissues. *Conférences et Rapports présentés au 3^e congr. internat. de Biochimie, Bruxelles* **1**—**6**, Août 1955. — ¹² ELIAS, H., J. C. SHERRICK and R. F. BOULDIN: Reaction of the normal liver parenchyma to metastatic carcinoma. *Acta hepat. (Hamburg)* **6**, 357 (1962). — ¹³ ELIAS, H.: Multicentric carcinogenesis in the human liver. *Acta hepat. (Hamburg)* **7**, 65 (1960). — ¹⁴ FITCH, W. M., R. HILL and J. C. CHAIKOFF: Extent and patterns of adaptation of enzyme activities in liver of normal rats fed diets high in glucose and fructose. *J. biol. Chem.* **235**, 554 (1960). — ¹⁵ FREELAND, R. A., and A. E. HARPER: Metabolic adaptations in higher animals. *J. biol. Chem.* **234**, 1351 (1959). — ¹⁶ GLOCK, G. E., and P. McLEAN: Effects of hormones on levels of oxidized and reduced diphosphopyridine-nucleotide and triphosphopyridine-nucleotide in liver and diaphragm. *Biochem. J.* **61**, 397 (1955). — ¹⁷ GREENSTEIN, J. P.: *Biochemistry of cancer*, 2. Ed. New York: Academic Press, 1954. — ¹⁸ HAMPERL, H.: In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie, Die Morphologie der Tumoren*, S. 24. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — ¹⁹ HESS, B., u. S. J. WALTER: Über das Protein der Laktat-dehydrogenase im menschlichen Serum und Geweben. *Klin. Wschr.* **21**, 1080 (1960). — ²⁰ HOLZER, H., G. SEDLMAYR u. M. KIESE: Bestimmung des Blutgehaltes von Leberproben zur Korrektur biochemischer Analysen. *Biochem. Z.* **328**, 176 (1956). — ²¹ RICHTERICH, R.: *Enzymopathologie*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958. — ²² MERTEN, R.: Enzymverteilungsmuster im Plasma Krebskranker. *Bull. schweiz. Akad. med. Wiss.* **16**, Fasc. 6, 466 (1960). — ²³ MERTEN, R., u. H. G. SOLBACH: Enzymes in tumor diagnosis. *Acta Un. int. Cancer* **18**, 1 (1962). — ²⁴ PETERSON, E. A., and H. A. SOBER: Chromatographie of Proteins 1. Cellulose ion exchange adsorbents. *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 751 (1956). — ²⁵ PFLEIDERER, G., u. E. D. WACHSMUTH: Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der Lactat-dehydrogenase menschlicher Organe. *Biochem. Z.* **334**, 185 (1961). — ²⁶ RYSER, H., J. FREI and E. VANOTTI: Enzymic studies in small amounts of human tissue with the help of microanalytical methods. III. Energetic metabolism of cirrhotic and precirrhotic liver tissue removed by needle biopsy. *Clin. chim. Acta* **3**, 486 (1958). — ²⁷ STARKWEATHER, W. H., and H. K. SCHOCH: Some observations on the lactatdehydrogenase of human neoplastic tissue. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **62**, 440 (1962). — ²⁸ SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT u. E. WILDHIRT: Vergleichende Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen und in der Ratten-Leber. *Klin. Wschr.* **36**, 172 (1958). — ²⁹ SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT u. E. WILDHIRT: Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen Leber bei der akuten Hepatitis und ihren Ausheilungs-Zuständen. *Klin. Wschr.* **36**, 227 (1958). — ³⁰ SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT u. E. WILDHIRT: Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels im menschlichen Serum und in Leberpunkaten bei Lebererkrankungen. *Klin. Wschr.* **36**, 280 (1958). — ³¹ SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT u. E. WILDHIRT: Ergebnisse der Untersuchung weiterer 7 Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels in der normalen und pathologisch veränderten menschlichen Leber. Untersuchungen über den Eiweiß- und Blutgehalt in Leberpunkaten. *Klin. Wschr.* **37**, 1221 (1959). — ³² VILLAVICENCIO, M., and E. S. G. BARRON: Pathways of glucose metabolism in lymphatic cells of rabbits appendix and gardener's mouse lymphosarcoma. *Arch. Biochem.* **67**, 131 (1957). — ³³ WARBURG, O.:

Stoffwechsel der Tumoren. Berlin: Springer 1926. — ³⁴ WARBURG, O.: Über die Entstehung der Krebszelle. *Naturwissenschaften* **42**, 401 (1955). — ³⁵ WEICHELBAUM, T. E.: An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Amer. J. clin. Path.* **10**, 40 (1946). — ³⁶ WIELAND, TH., u. G. PFLEIDERER: Nachweis der Heterogenität von Milchsäure-Dehydrogenase verschiedenen Ursprungs durch Träger-Elektrophorese. *Biochem. Z.* **329**, 112 (1957). — ³⁷ WIELAND, TH., G. PFLEI-

DERER u. F. ORTANDERL: Über die Verschiedenheit der Milchsäuredehydrogenase. III. Vergleiche der Milchsäuredehydrogenasen aus verschiedenen Rattenorganen. *Biochem. Z.* **331**, 103 (1959). — ³⁸ WIELAND, TH., G. PFLEIDERER u. K. RAJEWSKY: Über die Verschiedenheit der Milchsäure-Dehydrogenasen. V. Papierelektrophoretischer Vergleich der typischen Spaltprodukte. *Z. Naturforsch.* **15b**, 434 (1960). — ³⁹ WILLIS, R. A.: *Pathology of tumors*, 2. ed. London: Butterworth & Co. 1953.

Lebenslauf

Am 7. März 1936 wurde ich in Göttingen als Sohn des damaligen wissenschaftlichen Assistenten Dr. KARL BÄR und seiner Ehefrau HANNAH, geb. KAMMANN, geboren. 1938 bis 1940 wurde mein Vater nach Berlin, 1940 an die landwirtschaftlichen Versuchs- und Forschungsanstalten nach Landsberg/Warthe versetzt und auch zum Prof. für Landwirtschaft an der Universität Göttingen ernannt. In Landsberg wurde ich im Herbst 1942 in die dortige Volksschule eingeschult. Nach unserer Flucht vorden sowjetischen Besatzungstruppen fanden wir im Sommer 1946 in Kassel eine neue Heimat, wo ich weitere 2 Jahre die Bürgerschule besuchte. 1946 verstarb mein Vater in russischer Gefangenschaft. Von Herbst 1947 bis Ostern 1957 besuchte ich 9 $\frac{1}{2}$ Jahre lang die staatliche Wilhelmschule, Realgymnasium zu Kassel, und schloß mit der Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1957 begann ich das Medizinstudium an der Philipps-Universität Marburg und bestand hier am 8. August 1959 die ärztliche Vorprüfung. Die folgenden Semester studierte ich im Wintersemester 1959/60 in Innsbruck und im Sommersemester 1960 in Kiel, um anschließend im Wintersemester 1960/61 wieder nach Marburg zurückzukehren. Hier bestand ich im Januar 1963 das medizinische Staatsexamen. Seit dem 1. März 1963 bin ich als Medizinalassistent an der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten in Marburg:

BERENDES, BOCK, BRAUN-FALCO, DIMROTH, EXNER, FÖRSTER, GEDIGK, GREBE, GROSS, HAMM, HARTMANN, HENSEL, HILDEBRANDT, HORNUNG, HUBER, JACOB, LANG, LINNEWEH, MAHR, v. MANGER-KÖNIG, MATTES, MAURATH, DU MESNIL DE ROCHEMONT, MEYER, NEUBAUER, NIES-SING, NIETH, PETRY, PIRSON, PRINZ, QUECKE, ROLLHÄUSER, SCHMID, SCHMITZ, SCHÖLMEICH, SCHULTZE, SCHWAIGER, SEIDEL, SIEGERT, SIESS, STEIN, STRAUB, STREICHER, VOGT, WALCHER, WENDT, WÜRTERLE;

in Innsbruck:

SABL, HITTMAYER, HUBER, JOB, KONRAD, LANG, PREISSECKER, TAPFER, WEITHALER;

in Kiel:

KNOTHE, LENSSEN, PELS, PHILIPP, REINWEIN, STAEMMLER, STANGE, WANKE.

